

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie der Haustiere
mit Ambulatorium
der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold)

**VERHINDERUNG VON UNERWÜNSCHTEN
KASTRATIONSFOLGEN BEI DER HÜNDIN
DURCH TRANSPLANTATION
VON AUTOLOGEM OVARGEWEBE**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
SIBYLLE ZINDEL - GRUNDER
Tierärztin
von Maienfeld

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. M. Berchtold, Referent
Prof. Dr. Dr. h.c. H. Stünzi, Korreferent

Zürich 1981
Druck: R. Gysin AG

Aus der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie der Haustiere
mit Ambulatorium
der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. M. Berchtold)

**VERHINDERUNG VON UNERWÜNSCHTEN
KASTRATIONSFOLGEN BEI DER HÜNDIN
DURCH TRANSPLANTATION
VON AUTOLOGEM OVARGEWEBE**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinär-Medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von
SIBYLLE ZINDEL - GRUNDER
Tierärztin
von Maienfeld

Genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. M. Berchtold, Referent
Prof. Dr. Dr. h.c. H. Stünzi, Korreferent

Zürich 1981
Druck: R. Gysin AG

Inhaltsverzeichnis

A.	PROBLEMATIK	1
B.	LITERATURÜBERSICHT ZUR AUTOTRANSPLANTATION VON OVARGEWEBE	3
	1. Allgemeines	3
	2. Implantationsstelle und Operationstechnik	4
	3. Einwachsen und Aktivität des Implantates	5
	4. Auswirkungen der Implantat-Aktivität	7
C.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	9
	1. Material und Methoden	9
	2. Ergebnisse	15
	a) Zyklus zum Zeitpunkt der Ovartransplantation	15
	b) Postoperativer Verlauf	16
	c) Beurteilung der Implantate	18
D.	DISKUSSION	25
E.	ZUSAMMENFASSUNG	29
F.	LITERATURVERZEICHNIS	30
G.	ANHANG	35
	1. Lebenslauf	35
	2. Dank	36



A. PROBLEMATIK

Die sexuelle Ruhigstellung der Hündin ist ein unbefriedigend gelöstes Problem. Die heute zur Verfügung stehenden Methoden, nämlich die hormonelle Läufigkeitsverschiebung und die Kastration, sind mit verschiedenen Nachteilen behaftet. Bei der medikamentösen Ruhigstellung besteht das Risiko einer Mukometra- oder Pyometraentwicklung (18, 2, 12, 34). Bei der Ovariektomie ist die Incontinentia urinae eine der häufigsten unerwünschten Nebenwirkungen, die sich bei bis zu 10 % der operierten Hündinnen manifestiert (39). Auch Haarkleidveränderungen und Gewichtszunahme treten als nicht seltene Kastrationsfolgen auf (23, 38). Diese Veränderungen werden auf einen Mangel an ovariellen Hormonen zurückgeführt (30, 15, 23). Hinweise für die Richtigkeit dieser Hypothese ergeben sich aus der Tatsache, dass die Nebenerscheinungen der Ovariektomie durch die Substitution von Oestrogenen oder Gestagenen vorübergehend behoben werden können (30, 23). Eine lebenslängliche Substitutionstherapie stellt jedoch keine befriedigende Lösung dar.

Es wäre daher wünschenswert, über eine Methode zur sexuellen Ruhigstellung der Hündin verfügen zu können, bei der ein minimaler Spiegel endogener Sexualhormone aufrecht erhalten bleibt. Eine Möglichkeit hierzu bietet die Autotransplantation von Ovargewebe im Anschluss an die beidseitige Ovariektomie.

Erste Versuche in dieser Richtung sind vielversprechend verlaufen (38). Bevor die Methode jedoch für die Praxis empfohlen werden kann, sind erst noch eine Reihe grundsätzlicher Fragen zu klären.

Die vorliegende Arbeit hatte folgende Zielsetzungen:

- Erarbeitung einer praxisgerechten Operationstechnik zur Autotransplantation von Ovargewebe

- Überprüfung der Eignung verschiedener Rezeptorgewebe
- Abklärung, ob transplantiertes Gewebe seine spezifischen Funktionen wieder aufnimmt, ohne zu klinischen Veränderungen zu führen

B. LITERATURÜBERSICHT ZUR AUTOTRANSPLANTATION VON OVARGEWEBE

1. Allgemeines

Seit Jahrzehnten werden Ovartransplantationen an Tieren vorgenommen. Diese Versuche dienten der Abklärung verschiedenster Fragestellungen wie Einwachsen von Transplantaten (13, 27, 37), Inaktivierung der Hormone in der Leber (4, 7, 14, 20), Funktion der gonadotropen und ovariellen Hormone (1, 5, 8, 14, 25), Produktionsort der einzelnen Sexualhormone (17) und anderen mehr.

Als Implantationsstellen wurden je nach Problemstellung die verschiedensten Organe gewählt (Tab. 1). Fiel dabei die Wahl auf ein Organ, das dem Pfortadersystem angeschlossen ist, so zeigten die meisten Tiere trotz aktivem implantiertem Ovarparenchym keine Brunstsymptome mehr (8, 7, 13, 14, 20, 22, 32). Als Erklärung dafür wird die Inaktivierung der Sexualhormone in der Leber (24, 29, 40) angegeben. Wurden die Ovarien hingegen in andere Organe implantiert, traten zum Teil wieder äusserlich erkennbare Brunstzyklen auf (5, 22, 32).

Erste Untersuchungen, die Autotransplantation von Ovargewebe zur Verhinderung von Kastrationsfolgen zu nutzen, stammen aus der Humanmedizin (10, 11). Sie datieren aus der Zeit, als noch keine Sexualhormone für die Substitutionstherapie zur Verfügung standen. Patientinnen, bei denen wegen Ovar- oder Eileitererkrankungen eine beidseitige Ovariectomie vorgenommen werden musste, wurden gesunde Teile der eigenen Ovarien transplantiert (zum Beispiel in den Musculus rectus abdominis). Damit konnte die Hormonproduktion aufrecht erhalten werden, was sich darin äusserte, dass bei Patientinnen mit intaktem Uterus wieder Menstruationen auftraten.

In der Veterinärmedizin wurde von LE ROUX und VAN DER WALT 1978 (38) der Versuch unternommen, das Auftreten von Kastration

tionsnebenerscheinungen auch bei Hündinnen mit Hilfe der Transplantation von autologem Ovargewebe zu verhindern. Dabei stellte sich zusätzlich das Problem, dass keine Läufigkeitssymptome mehr auftreten sollten. Dieses Ziel erreichten die Autoren dadurch, dass sie die Ovarstücke in den Magen implantierten, in ein Organ also, das dem Pfortadersystem angeschlossen ist. Während der Beobachtungszeit von einem Jahr traten bei keiner von vier Hündinnen Läufigkeit oder unerwünschte Kastrationsfolgen auf.

2. Implantationsstelle und Operationstechnik

Als Rezeptororgane, die dem Pfortaderkreislauf angeschlossen sind, dienten bei verschiedenen Tierarten folgende Organe: Netz (3, 20, 37), Darm (22, 32), Magen (38) und Milz (7, 8, 13, 25). Bei der Wahl dieser Implantationsstellen muss darauf geachtet werden, dass sich keine Verwachsungen des Implantates mit anderen Organen oder dem parietalen Peritoneum bilden, damit alle Sexualhormone über die Pfortader in die Leber geleitet werden und nicht zuerst in den Körperkreislauf gelangen (7, 13, 25).

Grundsätzlich kommen zwei Implantationstechniken in Frage: mit und ohne chirurgische Herstellung von Gefässanastomosen. Der technische Aufwand zur operativen Bildung von Gefässanastomosen ist allerdings so gross, dass dieses Verfahren für die Praxis ausscheidet (6, 21, 35). In verschiedenen Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, dass man auf künstliche Gefässverbindungen verzichten kann, ohne das Einwachsen der Transplantate zu gefährden (Tab. 1). Voraussetzung dafür ist, dass ein Transplantat nicht zu gross ist, damit durch die Gefässeinsprossung aus dem Rezeptororgan das Implantat möglichst schnell und vollständig revaskularisiert wird (38). Andernfalls besteht die Gefahr einer partiellen oder totalen Nekrose des übertragenen Gewebes (35).

3. Einwachsen und Aktivität des Implantates

Die Vorgänge während des Einwachsens von Implantaten ohne chirurgisch hergestellte Gefässanastomosen haben DONOVAN beim Frettchen (14) und BISKIND et al. bei der Ratte (9) beschrieben: Auf eine erste Phase mit zentraler Nekrose unterschiedlichen Ausmasses und teilweise entzündlicher Reaktion des Rezeptororganes folgte meist ein vollständiges Einwachsen der Implantate mit Revaskularisierung und Follikelanbildung in der Randzone des Implantates.

Einige Autoren beobachteten bei Ratten (3, 7, 13) und Meerschweinchen (31) ein unkontrolliertes Wachstum der Implantate in der Milz und im Netz, so dass sich daraus Luteome und Granulosazelltumoren entwickelten. Es wird angenommen, dass diese Reaktion auf eine übermässige Ausschüttung von Gonadotropinen zurückgeführt werden muss. Die Hypophyse soll durch die sehr niedrigen Sexualhormonspiegel im Blut stimuliert werden (33). Derartige Tumoren konnten aber bei anderen Tierarten nicht beobachtet werden.

Von speziellem Interesse ist natürlich, ob eingewachsenes Gewebe auch funktionell dem Ovargewebe gleicht. Diese Frage nach der Aktivität von transplantiertem Ovargewebe wurde von verschiedenen Autoren anhand der folgenden Kriterien geprüft:

- Wiederauftreten von Brunstsymptomen
- Veränderungen an den Erfolgsorganen der Sexualhormone (Vulva, Vagina, Uterus)
- Follikuläre Aktivität der Implantate
- Hormonanalysen im Blut

Alle diese Untersuchungen wurden bei verschiedenen Tierarten einzeln oder kombiniert vorgenommen und sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht über Untersuchungen zur Überprüfung der hormonellen Aktivität von autotransplantierten Ovarien (ohne chirurgische Gefässanastomosen)

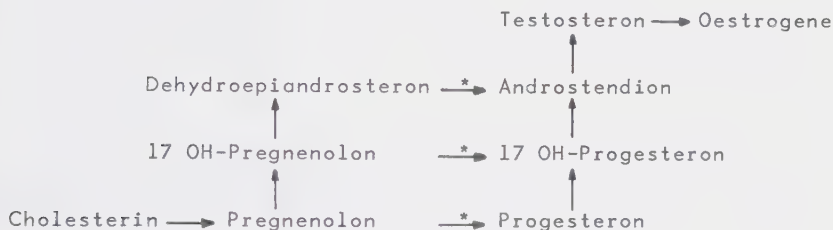
Tierart	Rezeptororgan	Beurteilungskriterien	Beurteilung des Transplantates	Autor
Kaninchen	vordere Augenkammer	Endometrium, follikuläre Aktivität	aktiv	1
Ratte	grosses Netz	Endometrium, Vaginalepithel	aktiv 1)	3
Ratte	Schwanz	Vagina, Uterus, Mamma	aktiv	5
Ratte	Milz	follikuläre Aktivität	aktiv	8
Ratte	Milz	Vaginalepithel, Endometrium, follikuläre Aktivität	aktiv 2)	7
Ratte	Milz, Niere, Leber	Endometrium, Vaginalepithel, Uterusgewicht	aktiv 1)	13
Frettchen	Milz, Niere	Vulva, Uterus	aktiv	14
Ratte	Netz, Haut	Vaginalepithel, follikuläre Aktivität	aktiv	20
Kaninchen	Colon, parietales Peritoneum, Bursa ovarica	follikuläre Aktivität, Uterus, Endometrium	aktiv	22
Kaninchen	Milz	follikuläre Aktivität	aktiv	25
Ratte	Milz	Hormonbestimmung vena porta	aktiv	27
Schwein	Uterus, Bauchwand	Oestrussymptome	aktiv	32
Hund	Netz	follikuläre Aktivität	aktiv	37
Hund	Magen	Hormonbestimmung	aktiv 3)	38

1) tumoröse Entartung des Transplantates

2) an den Erfolgsorganen (Vagina, Endometrium) kaum Aktivität erkennbar

3) jedoch keine Läufigkeit

Eine weitere indirekte Methode zum Nachweis der Hormonproduktion in Ovarien besteht darin, dass mit Hilfe einer Farbreaktion ein zur Steroidsynthese erforderliches Enzym histochemisch lokalisiert wird. Besonders geeignet erscheint in diesem Zusammenhang der Nachweis der 3β -Hydroxysteroiddehydrogenase (3β -HSD), deren Angriffspunkte (*) aus dem folgenden Schema ersichtlich sind:



Auch im Ovar der Hündin liess sich die 3β -HSD in bestimmten Zyklusstadien nachweisen. Die höchsten Aktivitäten fanden FOWLER und FELDMANN (19) während des Proöstrus in den Theca- und Granulosa-Zellen, während des Oestrus in den Luteinzellen, den Theca- und Granulosa-Zellen und während des Metöstrus in den Corpora lutea. Nach DREIER et al. (16) korreliert beim Hund die Menge der nachweisbaren 3β -HSD gut mit der Höhe des Plasmaprogesteronspiegels. Allerdings darf man bei sehr niedrigen Progesteronkonzentrationen (unter 6,7 ng/ml Plasma) keine positive histochemische Reaktion auf den Ovarien mehr erwarten.

4. Auswirkungen der Implantat-Aktivität

Die folgenden Ausführungen beziehen sich auf Versuchsanordnungen, in denen als Implantationsstelle ein dem Pfortadersystem angeschlossenes Organ gewählt wurde. Die meisten Autoren stellten fest, dass trotz nachweisbarer Funktionsstadien in den Im-

plantaten die Uteri atrophierten, und dass keine Brunstsymptome auftraten (8, 20, 22, 25, 32).

Vergleichende Untersuchungen an intakten weiblichen Mäusen, an weiblichen Kastraten und an Mäusen, welchen nach beidseitiger Ovariectomie Ovargewebe in die Milz implantiert wurde, führten zu folgenden Resultaten (4): Die Uterusgewichte, die als Kriterium für den Einfluss der Sexualhormone dienten, waren am schwersten bei intakten Tieren, am leichtesten bei Kastraten und lagen zwischen diesen beiden Gruppen bei den implantateträgenden Mäusen.

Analoge Unterschiede ergaben sich auch bei Hormonbestimmungen an Hündinnen, von denen die einen intakt belassen, die anderen kastriert und die dritten mit Ovarimplantaten versehen wurden (38). Die Oestrogen- und Progesteronplasmaspiegel waren am höchsten bei der Gruppe der intakten Tiere, niedriger bei der Gruppe der implantateträgenden Hunde und am niedrigsten bei den Kastraten. Diese Ergebnisse lassen erkennen, dass die Ovartransplantate einen gewissen endogenen Sexualhormonspiegel aufrecht erhalten, der jedoch nur beschränkte Auswirkungen auf die Erfolgsorgane hat.

Einige Autoren berichten auch über Versuche, bei denen die Tiere trotz richtig gewählter Implantationslokalisation wieder Brunstsymptome zeigten. Dabei handelte es sich um Tiere mit tumorös entarteten Implantaten (3, 13) oder um Implantate, bei denen Verwachsungen vorlagen (7, 13, 25).

Die bislang an verschiedenen Tierarten gewonnenen Erfahrungen lassen erkennen, dass es bei geeigneter Technik möglich sein sollte, bei Hündinnen durch autologe Transplantation von Ovargewebe nach beidseitiger Ovariectomie die Läufigkeit auszuschalten bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung eines gewissen Spiegels an endogenen Sexualhormonen.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methoden

Es standen 8 gesunde Versuchshündinnen im Alter von 8 Monaten bis zu 4 Jahren, mit Gewichten von 19 bis 50 kg, zur Verfügung. Die Tiere wurden in Zwingern gehalten und erhielten zweimal täglich ein Standardfutter. Sie kamen jeden Tag für einige Stunden in ein Aussengehege und waren während dieser Zeit mit Rüden zusammen.

Die Hündinnen wurden zur Zyklusbestimmung gynäkologisch untersucht: Adspektion, Vaginoskopie und Vaginalzytologie. Zusätzlich wurde auf das Verhalten der Rüden geachtet.

Nach einer Beobachtungszeit von 4 bis 14 Tagen wurden die Tiere in der Medianen laparotomiert und beidseitig ovariektomiert. Zusammen mit den Ovarien wurden auch 1 bis 2 cm der kranialen Abschnitte der Uterushörner entfernt. Die exstirpierten Ovarien wurden quer zur Längsachse in etwa 2 mm dicke Scheiben geschnitten (Abb. 1) und diese zunächst in physiologischer Kochsalzlösung eingelegt. Etwa zwei Drittel dieses Ovargewebes dienten der Transplantation. Die restlichen Ovarscheiben sowie die exstirpierten Uterushornspitzen wurden im Hinblick auf spätere histologische Untersuchungen zur Bestimmung der Zyklusphase zum Zeitpunkt der Implantation in 4 % Formalin fixiert.

Da in der vorliegenden Arbeit nebenbei die Frage interessierte, ob die Transplantation von Ovargewebe in ein dem Pfortadersystem angeschlossenes Rezeptororgan andere Auswirkungen hat als eine Transplantation in Pfortader-unabhängiges Gewebe, wurden zwei Gruppen gebildet:

Gruppe I : Implantation in den Magen

Gruppe II: Implantation in die Subkutis

Gruppe I

(Magenwand)

Bei 6 Hündinnen erfolgte die Übertragung von Ovargewebe in die subserösen Schichten der Magenwand, wobei folgendermassen vorgegangen wurde:

- Verlagerung des Magens ins Operationsfeld (Abb. 2)
- 1 cm lange Inzision im Bereich der grossen Krümmung
- Stumpfes, taschenförmiges Freipräparieren der Serosa (Abb. 3)
- Einlegen von 4 bis 5 der vorbereiteten Ovarscheiben (Abb. 4)
- Verschluss der Serosa mit Einzelnähten (Abb. 5)
- Reposition des Magens
- Verschluss der Bauchwand in 3 Schichten

Gruppe II

(Subkutis)

Die Transplantation von Ovargewebe in die Magenwand hat den Nachteil, dass bei Komplikationen histopathologischer oder funktioneller Art keine direkte Kontrolle möglich ist und eine zweite Bauchhöhlenoperation unter Umständen erforderlich werden könnte. Aus diesem Grunde sollte im Sinne eines Testversuches überprüft werden, ob eine subkutane Transplantation als Alternative in Frage käme. Voraussetzung dafür wäre ein Einwachsen des Transplantates mit Wiederaufnahme der spezifischen Funktionen, jedoch mit begrenzter Produktion von Sexualhormonen und somit ohne Wirkung auf die Geschlechtsorgane. Als Implantationsort wurde bei 2 Hündinnen die Subkutis im Bereich des Nackens gewählt. Nach der Ovariectomie wurde die Bauchdecke wie oben beschrieben verschlossen und das vorbereitete Ovargewebe an einer Stelle unter die taschenförmig freipräparierte Haut geschoben.

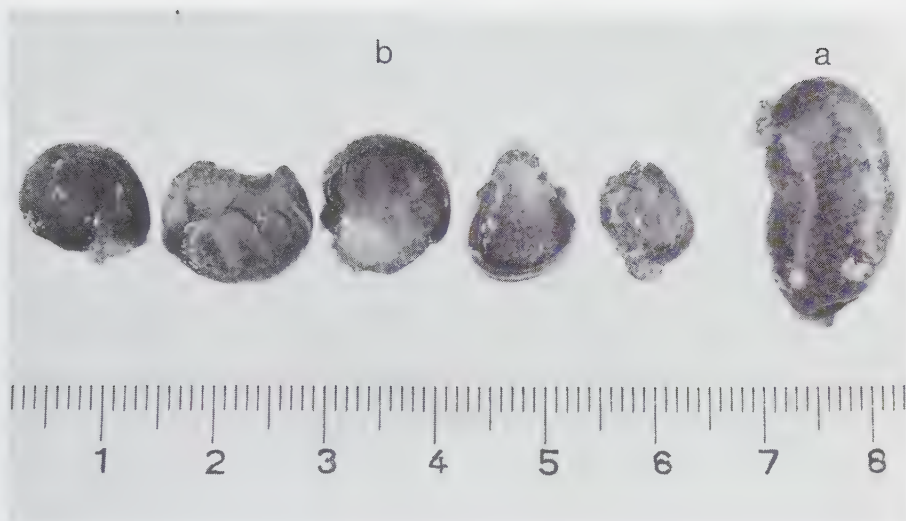


Abb. 1: Ovarien einer Versuchshündin. Intaktes Ovar (a) und zur Transplantation vorbereitete "Tranchen" (b).

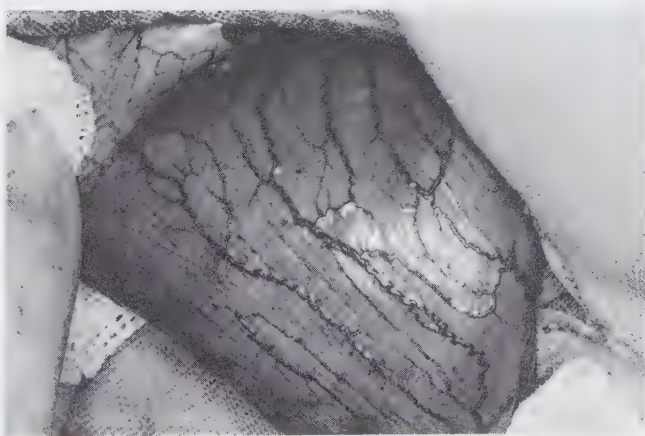


Abb. 2: Vorlagerung des Magens

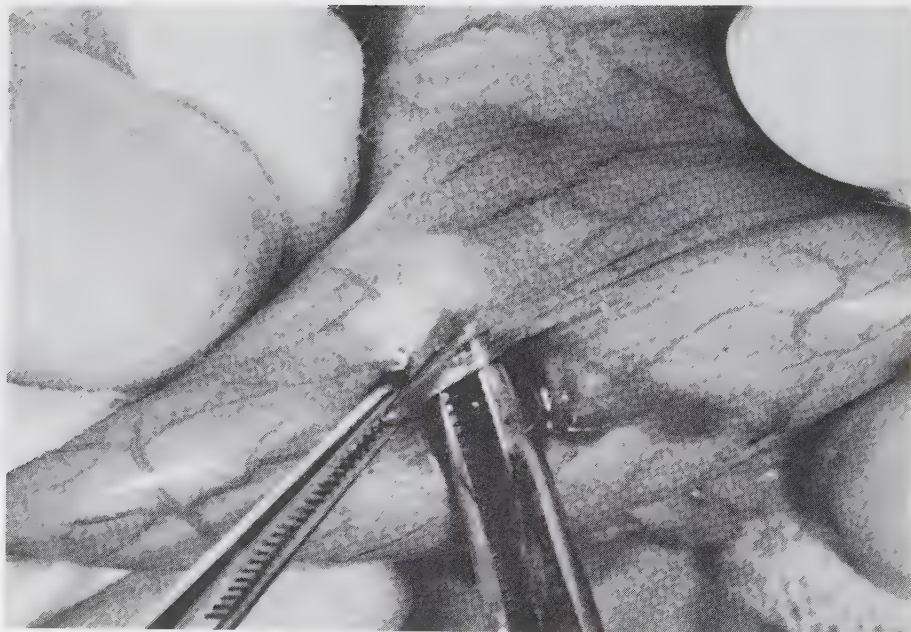


Abb. 3: Stumpfes Ablösen der Tunica serosa von der
Tunica muscularis



Abb. 4: Einlegen von Ovargewebe in die vorbereitete, subseröse "Tasche"

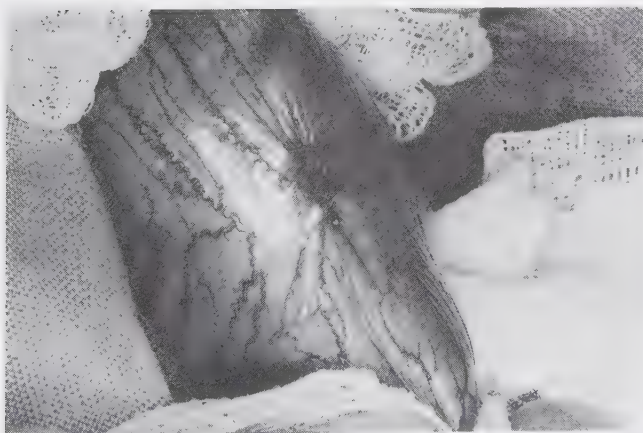


Abb. 5: Magen nach Verschluss der Implantationsstelle

Während der postoperativen Überwachung wurde in den ersten Tagen die Kontrolle des Allgemeinbefindens intensiviert (Temperaturkontrolle, Fresslust, Erbrechen).

Die Zykluskontrolle wurde im weiteren auf Adspektion, wöchentliche vaginalzytologische Untersuchungen und Beobachtung des Verhaltens der Rüden als Indikator für eine östrogene Reaktionslage der operierten Hündinnen beschränkt.

Die Beurteilung der Implantate erfolgte in unterschiedlichen Abständen von der Operation; das Alter der Implantate lag zwischen 2 und 12 Wochen. Bei der Gruppe I wurde das Ovargewebe durch Resektion des betreffenden Magenanteiles entfernt. Bei der Gruppe II konnte es durch Herauslösen aus der Subkutis der Untersuchung zugänglich gemacht werden.

Nach der Beurteilung der Grösse und der Gestalt wurden die Implantate zur weiteren Untersuchung je zur Hälfte in 4 % Formalin fixiert oder in flüssigem Stickstoff tiefgefroren.

Gleichzeitig mit der Implantat-Entfernung wurde bei jedem Tier eine vollständige Hysterektomie durchgeführt, und der Uterus für die histologische Untersuchung in 4 % Formalin fixiert.

Es kamen folgende Labormethoden zur Anwendung:

Vaginalzytologie:

Der Zustand des Vaginalepithels wurde an Abstrichpräparaten, die nach Papanicolaou gefärbt waren, beurteilt (26).

Histologie:

Die formalinfixierten Ovarien, Uteri und Implantate wurden in Paraffin eingebettet. Die histologische Untersuchung erfolgte an Hämalaun-Eosin gefärbten Schnitten.

Histochemie:

Der Nachweis der 3β -Hydroxysteroiddehydrogenase im Implantat erfolgte am Kryostatschnitt nach der Methode von LOJDA (28); als Substrat diente Dehydroepiandrosteron.

2. Ergebnisse

a) Zyklus zum Zeitpunkt der Ovartransplantation

Die Zyklusbestimmung aufgrund der histologischen Untersuchung der Ovarien ergab folgende Resultate (Tab. 2):

Zum Zeitpunkt der Implantation befanden sich vier der insgesamt 8 Hündinnen im Anöstrus, davon war eine vor der Geschlechtsreife. An diesen juvenilen Ovarien fanden sich erst Primär- und kleine Sekundärfollikel. Auf den Ovarien der übrigen drei anöstrischen Tiere waren neben Primär-, Sekundär- und unreifen Tertiärfollikeln auch alte Corpora lutea.

Zwei Hündinnen waren im Proöstrus. Auf den Ovarien konnten grosse Graaf'sche Follikel neben vielen Sekundär- und Primärfollikeln und alten Corpora lutea festgestellt werden. Eine Hündin war 50 Tage trächtig und auf den Ovarien fanden sich entsprechend grosse Corpora lutea. Eine Hündin schliesslich befand sich im späten Metöstrus mit alternden Corpora lutea und einigen Primär- und Sekundärfollikeln auf den Ovarien.

Tabelle 2: Zyklusstadium zum Zeitpunkt der Implantation

Hund Nr.	Zyklusstadium	Funktionsstadien der Ovarien
1	50 Tage trächtig	Corpora lutea
3	Metöstrus	alternde Corpora lutea, Primär- und Sekundärfollikel
2	Anöstrus	altes Corpus luteum, Primär- und Sekundärfollikel
7	Anöstrus	altes Corpus luteum, Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel
5	Anöstrus	Reste eines Corpus luteum, Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel
4	Anöstrus (vor Geschlechtsreife)	Primär- und Sekundärfollikel, viele Follikel mit 2 Eizellen
8	Proöstrus	Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel (bis reife), altes Corpus luteum
6	Proöstrus	Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel (bis reife), Corpus luteum-Reste

Die Ergebnisse der zwei zusätzlichen Untersuchungsmethoden zur Ermittlung der Zyklusphase (histologische Beurteilung der Uteri und Vaginalzytologie) stimmten mit diesen histologischen Ovarbefunden überein.

b) Postoperativer Verlauf

Der klinische Verlauf nach der Implantation war bei allen Versuchstieren mit Magenimplantaten komplikationslos. Sie zeigten kein Erbrechen, nie Fieber und frassen schon am ersten Tag post operationem wieder.

Die beiden subkutanen Implantate führten zu starken lokalen Schwellungen, die innerhalb von 5 und 7 Tagen spontan abheilten.

Die Rüden verhielten sich allen Hündinnen gegenüber indifferent, wie während der anöstrischen Phase.

Die gynäkologische Untersuchung der operierten Hündinnen zeigte bei allen einen ähnlichen Verlauf. Keines der Tiere zeigte Läufigkeitssymptome. Die vaginalzytologischen Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst: Bei allen 6 Tieren der Gruppe I mit den Magenimplantaten blieb das Vaginalepithel während der Versuchsperiode unverhornt, in einem anöstrusähnlichen Zustand.

Auch die Hunde der Gruppe II (Nr. 7 und Nr. 8) zeigten keinen Zyklus; aber die vaginalzytologischen Bilder waren weniger einheitlich. Es traten mehrmals verhornte Superfizialzellen in grösserer Anzahl auf (bis über 50 % der Zellen). Blutungen und Vulvaschwellungen blieben aber aus, und zwischen den kurzen Verhornungsperioden stellten sich wieder Phasen mit völlig unverhorntem Vaginalepithel ein (Tab. 3).

Tabelle 3: Vaginalzytologische Befunde post operationem

Alter der Implantate in Wochen	Implantate im Magen Hunde 1 bis 6						Implantate in Subkutis Hunde 7 u. 8	
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	m	A	A	A	A	m	A	m
2	m	A	A	A	A	A	n.i.	v
3		A	A	A	A	A	A	A
4			A	A	n.i.	A	v	v
5			A	A	A	A	n.i.	A
6				A	A	A	n.i.	A
7				A	A	A	A	n.i.
8				A	n.i.	A	v	v.v.
9					A	A		n.i.
10					A	A		A
11						A		A
12						A		A

Legende:

A = Anöstrus

m = metöstrusähnlich

n.i. = nicht interpretierbar (keiner Zyklusphase zuzuordnen)

v = mit wenigen verhornten Zellen

v.v. = mit vielen verhornten Zellen

c) Beurteilung der Implantate

Bei den Hunden der Gruppe I wurden die Implantate während 2, 3, 5, 8, 10 respektive 12 Wochen im Magen belassen. Zum Zeitpunkt der Implantatentfernung fanden sich bei vier dieser sechs Tiere kleine, fadenartige Verklebungen mit dem grossen Netz. Mit anderen Organen entstanden keine Verwachsungen.

Die Implantate präsentierten sich makroskopisch als linsen- bis erbsengrosse harte Erhebungen mit einem vollständigen Serosaüberzug. Ihre Grösse blieb im Verhältnis zur implantierten Masse während diesen maximal 12 Wochen etwa konstant.



Abb. 6: 8 Wochen altes Implantat unter der Magenserosa (Pfeil)

Im Anschnitt zeigten sich inhomogene Strukturen mit bröcklichen gelben Herden, die in den ersten Wochen ausgedehntere Bezirke einnahmen, bei den älteren Implantaten kleiner waren und, wo noch erkennbar, gräulich, farbloser erschienen.

Bei der histologischen Untersuchung erwiesen sich die Implantate als eingewachsene, gut abgrenzbare Organe, die unter der Magenserosa lagen und zum Teil bis in die tieferen Schichten der Tunica muscularis reichten (Abb. 7 und 8).

In den ersten Wochen reagierte das Rezeptororgan mit Fremdkörperriesenzellen und mit Rundzellinfiltraten auf Nahtmaterial und Implantat, was am deutlichsten beim erst 2 Wochen alten Implantat erkennbar war. Diese Reaktionen waren in der Magenwand bei älteren Implantaten (ab 5. Woche) geringer.

Das implantierte Gewebe selbst nekrotisierte anfangs teilweise, vor allem zentral und in den implantierten Corpora lutea. Diese Nekrosevorgänge waren bei den Hunden der Gruppe I in den Implantaten im Alter von 2, 3 und 5 Wochen in abnehmendem Masse erkennbar und bei den älteren verschwunden, entsprechend den makroskopisch feststellbaren gelben Herden. Dafür sah man ab der 3. und 5. Woche vermehrt Anzeichen einer Fibrose, deren Anteil allerdings bei den älteren Implantaten wieder kleiner wurde.



Abb. 7: 5 Wochen altes Implantat

- a) Tunica mucosa
- b) Tunica muscularis
- c) Implantatanteile



Abb. 8: 10 Wochen altes Implantat

- a) Tunica mucosa
- b) Tunica muscularis
- c) Implantat mit d) Cortexanteilen

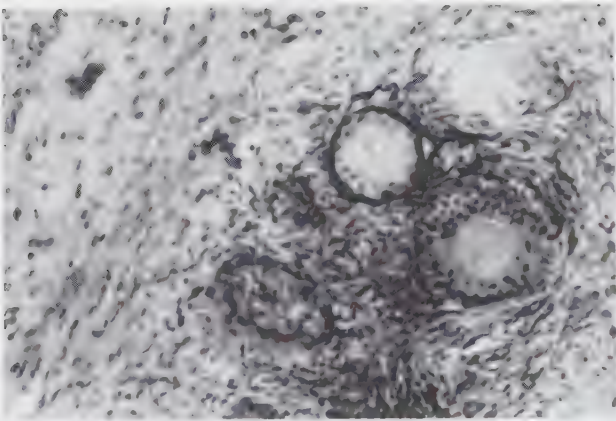


Abb. 9: Follikuläre Strukturen auf einem
10 Wochen alten Implantat (Magen)

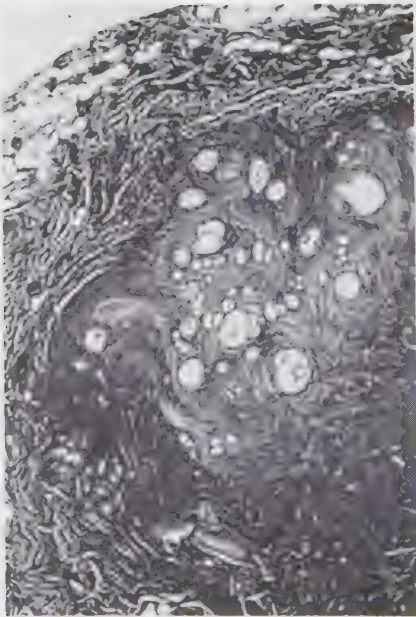


Abb. 10:
Follikuläre Strukturen auf einem 12 Wochen alten subcutanen
Implantat

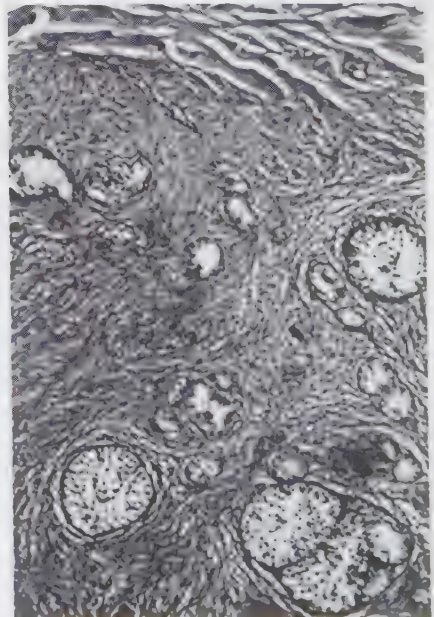


Abb. 11:

Überreste alter Blutungen (Hämosiderin) konnten bei verschiedenen Implantaten gefunden werden. Alle Implantate waren vaskularisiert. Die gut erkennbare Cortexschicht war bei den älteren Implantaten einheitlicher und zusammenhängender als bei den jungen, wo sie zum Teil nur aus einzelnen, versprengten Bezirken bestand (Abb. 7 und 8). Funktionsstadien konnten auf allen Implantaten gefunden werden (Abb. 9, 10, 11); anfänglich nur wenige kleine Primärfollikel und die implantierten alternden oder nekrotisierenden Corpora lutea, später auch Sekundärfollikel in grösserer Anzahl (Abb. 9). Immer waren viele atresierende Follikel erkennbar. Auf keinem Implantat konnten im Zeitraum von 12 Wochen grosse Graaf'sche Follikel oder frische Corpora lutea festgestellt werden.

Die subkutanen Implantate der beiden Hunde der Gruppe II blieben nach Abklingen der reaktiven Schwellung während der ganzen Versuchsperiode als etwa gleich grosse Knötchen unter der Haut erkennbar. Bei der Entfernung nach 8 respektive 12 Wochen präsentierten sie sich als haselnussgrosse, derbe Gebilde, die leicht aus der Subkutis herausgelöst werden konnten. Auch diese Implantate zeigten im Anschnitt grosse, gelbe Herde. Sie waren eingehüllt von weissem, relativ hartem Gewebe.

Bei der histologischen Untersuchung der subkutanen Implantate zeigten sich Unterschiede zu den Magenimplantaten, vor allem in bezug auf die Ausdehnung der Nekrosen und der Fibrosierung. Es konnten auch beim 8 Wochen alten Implantat noch nekrotisierende Bezirke beobachtet werden, und nach 12 Wochen waren grosse Teile des Implantates fibrosiert. Beide Implantate waren von viel dichtem Bindegewebe umgeben (Abb. 10).

Bei allen Hündinnen waren die Uteri zum Zeitpunkt der Implantatentfernung klein und schlecht tonisiert. Das histologische Bild liess bei allen eine deutliche Atrophie erkennen.

Die histochemischen Untersuchungen zum Nachweis der 3β -HSD in den Implantaten verliefen alle negativ.

D. DISKUSSION

Bei der Hündin bestehen zahlreiche Möglichkeiten zur sexuellen Ruhigstellung oder zur Trächtigkeitsverhütung: beidseitige Ovariectomie, Ovariohysterektomie, Hysterektomie, Resektion der Eileiter, Hysterektomie mit einseitiger Ovariectomie, Läufigkeitsverschiebung und Läufigkeitsunterdrückung mittels Gestagenen. Schon die Vielzahl der angewandten Methoden lässt den Verdacht aufkommen, dass keine voll und ganz befriedigt, dass jeder bestimmte Nachteile anhaften.

Nach der wohl am häufigsten praktizierten beidseitigen Ovariectomie mit oder ohne gleichzeitiger Hysterektomie sind verschiedene unerwünschte Nebenwirkungen möglich. Dazu gehören Incontinentia urinae, Haarkleidveränderungen und Gewichtszunahmen. Diese Komplikationen werden allgemein auf einen Mangel an ovariellen Hormonen zurückgeführt (23, 30, 36, 39). Mittels hormoneller Substitutionstherapie können in vielen Fällen die Symptome der unerwünschten Nebenwirkungen teilweise oder ganz behoben werden. Es ist aber zur längerfristigen Symptomenfreiheit eine Dauertherapie unter tierärztlicher Kontrolle notwendig (15, 30). Dies stimmt vor allem bei denjenigen Hündinnen bedenklich, die nicht aus medizinischen, sondern aus haltungsbedingten Gründen und somit als völlig normale, gesunde Tiere operiert wurden.

Auch die medikamentelle Verschiebung oder Unterdrückung der Läufigkeit hat ihre bekannten Nachteile: Das Risiko, dass sich früher oder später eine Mukometra oder Pyometra entwickelt, ist nie auszuschliessen (2, 12, 18, 34). Es ist daher nicht verwunderlich, dass von Hundebesitzern immer wieder nach einer anderen Methode gefragt wird, zum Beispiel einer Unterbindung der Eileiter. Der Nachteil der Methoden mit Belassung der Ovarien in situ (Unterbindung, Hysterektomie oder Hysterektomie mit einseitiger Ovariectomie) ist der, dass die Hündin wieder Läufigkeitssymptome zeigt. Diese Methoden scheiden also in all

denjenigen Fällen aus, bei denen eine "Behandlung" gerade deshalb gewünscht wird, damit keine Läufigkeit mehr auftrete. Zusätzlich besteht bei jeder hysterektomierten Hündin, die unter Östrogeneinfluss steht (z.B. Läufigkeit) das nicht unerhebliche Risiko von Deckverletzungen.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde versucht, dem berechtigten Anliegen nach einer sexuellen Ruhigstellung bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung eines endogenen Sexualhormonspiegels dadurch nachzukommen, dass mit der beidseitigen Ovariektomie gleichzeitig eine Transplantation von autologem Ovargewebe vorgenommen wurde. Die Ergebnisse lassen erkennen, dass die Übertragung von Ovargewebe in die subserösen Schichten der Magenwand der subkutanen Implantation aus folgenden Gründen überlegen war:

1. Die subkutanen Implantate verursachten unangenehme, schmerzhaftige Schwellungen, während nach der Implantation in den Magen keine Störungen auftraten.
2. Das Ausmass der Nekrosen und der Fibrose war in den subkutanen Implantaten deutlich grösser als in den Magenimplantaten.
3. Die vaginalzytologischen Verlaufsuntersuchungen zeigten bei den Tieren mit Magenimplantaten ein einheitlicheres und ruhigeres Bild als bei den Tieren, bei denen das Ovargewebe subkutan implantiert wurde. Eine eindeutige Interpretation dieser unregelmässigen, zum Teil viele verhornte Vaginalzellen aufweisenden zytologischen Bilder ist jedoch nicht möglich. Denkbar wäre, dass diese Veränderungen Ausdruck einer Reaktion des Vaginalepithels auf Um- und Abbauvorgänge an den Implantaten war.

Die Transplantation von Ovargewebe in die subserösen Schichten des Magens erwies sich als relativ einfach durchführbar. Auch Verwachsungen mit anderen Organen traten nicht auf. Einige kleine Verklebungsbezirke mit dem grossen Netz erscheinen von geringer Bedeutung, da sie weder ein mechanisches Hindernis noch eine Gefahr für einen portocavalen Shunt darstellen, da

auch das grosse Netz der Pfortader angeschlossen ist (41).

Da Implantate mit grossen Corpora lutea stärkeren Nekrosen unterworfen waren, ist es sicher vorteilhaft, nicht während des frühen Metöstrus zu operieren. Ähnliches gilt für die Zyklusphasen des Proöstrus und des Östrus. Da es bei der Manipulation an Ovarien in diesem Zyklusstadium zum Teil zu recht ausgedehnten Blutungen kam, ist es nicht ratsam, zu diesem Zeitpunkt zu operieren.

Die histochemischen Untersuchungsergebnisse müssen im Zusammenhang mit den zum Zeitpunkt der Untersuchung gefundenen Funktionsstadien an den Implantaten interpretiert werden. Die Follikelanbildung kam während der Versuchsperiode von 3 Monaten nicht über das Stadium der Sekundärfollikel hinaus. Es ist anzunehmen, dass das Fehlen von reifen Follikeln und frischen Corpora lutea auf die Besonderheiten des Zyklus der Hündin als saisonal monöstrisches Tier zurückzuführen ist. Es ist kaum zu erwarten, dass im Implantat Sekundärfollikel eine messbare 3β -HSD-Aktivität ergeben, während in normalen Ovarien nur in den reifen Tertiärfollikeln und den frischen Corpora lutea eine solche nachweisbar war (16, 19).

In der Literatur wird auf Fälle hingewiesen, bei denen sich die Implantate zu Luteomen oder Granulosazelltumoren entwickelten (3, 7, 13, 31). In der vorliegenden Untersuchung liessen weder die Grösse der Implantate noch deren histologisches Bild ein übermässiges Wachstum oder eine unkontrollierte Vermehrung einer speziellen Zellart erkennen. Es konnten im Zeitraum der Untersuchung keine Anzeichen für eine Tumorentwicklung beobachtet werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden:

Die Implantation von autologem Ovargewebe in die Magenwand ist der subkutanen Implantation vorzuziehen. Das nach der beschriebenen Technik implantierte Ovargewebe nimmt seine Aktivität (Bildung von Follikeln) wieder auf. Dies hat während der ersten

3 Monate keine unerwünschten Auswirkungen auf den Trägerorganismus. Ob die Methode die Forderungen nach der Verhinderung der Spätfolgen einer Kastration erfüllt, muss in einer folgenden Arbeit mit Untersuchungen über längere Zeit geklärt werden. Die Beobachtungen an 6 weiteren grosswüchsigen Hunden (2 Boxer, 2 Dobermannhündinnen, 1 Deutscher Schäferhund, 1 grosser Sennehundbastard), die nach obiger Methode operiert wurden, sind bisher erfolgversprechend verlaufen. Sie erlauben aber noch keine endgültige Aussage, da weder die Anzahl der Tiere noch der Beobachtungszeitraum (6 Monate) dafür ausreichen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 8 Hündinnen wurde nach beidseitiger Ovariectomie eine Transplantation von autologem Ovargewebe vorgenommen. Anhand der histologischen Untersuchung des implantierten Ovargewebes nach Beobachtungszeiten von 2 bis 12 Wochen konnte gezeigt werden, dass die Implantate eingewachsen waren und wieder Funktionsstadien bis zu Sekundärfollikeln trugen. Die Implantation unter die Serosa des Magens wurde der Transplantation in die Subkutis vorgezogen.

Die Hündinnen blieben während der Versuchsperiode azyklisch und zeigten nach der Implantation von Ovargewebe in den Magen keine klinischen Störungen.

Die Ergebnisse werden zusammen mit noch im Versuch stehenden Langzeituntersuchungen erfolgversprechend für eine Kastrationsmethode ohne unerwünschte Nebenerscheinungen gewertet.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLEN, E., F.O. PRIEST (1932)
Physiological responses of ectopic ovarian and endometrial tissue
Surg. Gynec. Obstet. 55; 553-558
2. ANDERSEN, R.K., Ch. E. GILMORE, G.B. SCHNELLE (1965)
Utero-ovarian disorders associated with use of Medroxy-progesterone in dog
J. Amer. vet. med. Ass. 146; 1311-1316
3. BER, A. (1968)
Development of ovarian autografts near the stomach of adult castrated rats
Endokrinologie 53; 48-61
4. BERNSTOF, E.C. (1951)
Incomplete hepatic inactivation of hormone produced by intrasplenically grafted ovary in the mouse
Endocrinology 49; 302-309
5. BIELSCHOWSKY, F., W.L. HALL (1953)
The endocrine imbalance induced in female rats by auto-transplantation of the ovary into the tail
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 31; 85-98
6. BINNS, R.M., F.A. HARRISON, R.B. HEAP (1967)
Transplantation of ovary in the pig and in the pregnant sheep
Acta endocr. (Kbh) 119; 193
7. BISKIND, M.S., G.R. BISKIND (1944)
Development of tumors in the rat ovary after transplantation into the spleen
Proc. Soc. exp. Biol. (NY) 55; 176-179
8. BISKIND, G.R., M.S. BISKIND (1948)
Atrophy of ovaries transplanted to spleen in unilaterally castrated rats; proliferative changes following subsequent removal of intact ovary
Science 108; 137-138

9. BISKIND, G.R., B. KORDAN, M.S. BISKIND (1950)
Ovary transplanted to spleen in rats; effect of unilateral castration, pregnancy and subsequent castration
Cancer Res. 10; 309-318
10. BUXTON, C.L., A.S.H. WONG (1950)
Use of transplants for hormonal replacement therapy
Amer. J. Obstet. Gynec. 60; 401-405
11. COTTE, G. (1942)
Grafts and residual tissue
Rev. franç. Gynéc. 37; 13-16
12. COX, J.E. (1970)
Progestagens in bitches: a review
J. small Anim. Pract. 11; 759-778
13. DEANE, W.H., D.W. FAWCETT (1956)
Histochemical characteristics of intrasplenic ovarian transplants in gonadectomised rats
J. Nat. Cancer Inst. 17; 541-
14. DONOVAN, B.T. (1969)
The functional capacity of ovarian tissue transplanted to the spleen or kidney in the ferret
J. Endocr. 45; 91-97
15. DREIER, H.K. (1974)
Richtige und falsche Hormonanwendung bei der Hündin
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 87; 68-70
16. DREIER, H.K. (1975)
The corpus luteum periodicum in the bitch: histochemical and biochemical investigations during different phases of the cycle
Histochemistry 45; 191-201
17. FALCK, B. (1959)
Site of production of oestrogen in rat ovary as studied in microtransplants
Acta Physiol. Scand. 47; 1-101
18. FICUS, H.J., W. JÖCHLE (1975)
Erwünschte und unerwünschte Gestagenwirkungen bei der Hündin
Tierärztl. Praxis 5; 231-241

19. FOWLER, E.D., M.K. FELDMANN (1970)
Histochemical demonstration of hydroxysteroiddehydrogenase activity in the mature canine ovary
Gen. comp. Endocr. 14; 484-490
20. GOLDEN, J.B., E.L. SERINGHAUS (1938)
Inactivation of estrogenic hormone of the ovary by the liver
Proc. Soc. exp. Biol. (NY) 39; 361-362
21. HARRISON, F.A., R.B. HEAP, A. SILVER (1974)
Cholinesterase activity in the autotransplanted ovary of a sheep
J. Physiol. (Lond) 242; 10-11
22. JASZCZAK, S.T., E.S.E. HAFEZ (1971)
Ovarian grafting in the rabbit with successful delivery of young
Int. J. Fertil. 16; 117-129
23. JOSHUA, J.O. (1965)
The spaying of bitches
Vet. Rec. 77; 642-646
24. KLEY, H.K., H.L. KRÜSKEMPER (1976)
Liver and steroid hormones
Med. Klin, 71; 799-866
25. KOULISHER, L. (1960)
Intrasplenic ovarian grafts in the castrated rabbits
Ann. Endocr. (Paris) 21; 314-320
26. KRATZHELLER, K. (1956)
Untersuchungen über das Zellbild von Vaginalabstrichen der Hündin im Färbeverfahren der Methode Papanicolaou
Vet. Diss. Giessen
27. LEAVITT, W.W., I.H. CARLSON (1968)
Progesterone, 20 α hydroxy Δ^4 pregnone-3-one, androstendione and corticosterone content of portal vein and vena cava blood in rats bearing ovarian grafts to the spleen
J. Reprod. Fert. 18; 172
28. LOJDA, Z., R. GOSSRAU, T.H. SCHIEBLER (1976)
Enzymhistochemische Methoden
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York

29. LUNGESTI, O., W. VELLE (1968)
In vitro metabolism of oestrogens in liver tissue from domestic animals
Acta endocr. (Kbh) 59; 682-688
30. MANN, C.J. (1971)
Some clinical aspects of problems associated with oestrus and with its control in the bitch
J. small Anim. Pract. 12; 391-397
31. MARDONES, E., R. IGLESIAS, A. LIPSCHUTZ (1955)
Granulosa cell tumors in intrasplenic ovarian grafts with intrahepatic metastasis in guinea pigs at 5 years after grafting
Brit. J. Cancer 9; 409-417
32. MARTIN, P.A., P.J. DZUIK (1974)
Estrous in the pig after ovarian transplantation
J. Animal Sci. 39; 992-993
33. MILLER, O.J., C.A. PFEIFFER (1950)
Demonstration of increased gonadotrophic production in castrated mice with intrasplenic ovarian grafts
Proc. Soc. exp. Biol. 75; 178-181
34. NELSON, L.W., W.A. KELLY (1976)
Progesteron-related gross and microscopic changes in female beagles
Vet. Path. 13; 143-156
35. PALDI, E. (1975)
Genitalorgans auto- and homotransplantation in forty dogs
Int. J. Fertil. 20; 5-12
36. PEARSON, H. (1973)
The complications of ovariectomy in the bitch
J. small Anim. Pract. 14; 257-266
37. ROMBERG, G.H. (1935)
Experimental transplantation of ovary, autotransplants and homotransplants of dog ovary into omentum
Amer. J. Surg. 29; 249-252
38. LE ROUX, P.H., L.A. VAN DER WALT (1977)
Ovarian autograft as an alternative to ovariectomy in bitches
J. S. Afr. vet. med. Ass. 48; 117-123

39. RUCKSTUHL, B. (1978)

Die Incontinentia urinae bei der Hündin als Spätfolge
der Kastration
Schweiz. Arch. Tierheilk. 120; 143-148

40. TRÄGER, L. (1977)

Steroidhormone
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

41. VITUMS, A. (1959)

Portal vein in the dog
Zbl. Vet. Med. A, 6; 723-741

G. ANHANG

1. Lebenslauf

Am 16. August 1953 geboren, besuchte ich nach der Primarschule vom Frühjahr 1966 bis zur Matura 1972 das Gymnasium in Zürich. Nach 2 Semestern Studium in Lausanne setzte ich im Herbst 1973 mein Veterinärstudium an der Universität Zürich fort, wo ich im Herbst 1977 das Staatsexamen ablegte.

Ab Frühjahr 1978 war ich während 2 Jahren als Assistentin an der Klinik für Geburtshilfe und Gynäkologie, seit April 1980 bin ich an der Klinik für Medizin am Tierspital in Zürich tätig.

2. Dank

Meinen herzlichen Dank

- Herrn Professor Dr. M. Berchtold für die Überlassung des Themas und die Leitung der Arbeit
- Fräulein Dr. M. Suter und Herrn PD Dr. J. Pohlenz für die Hilfe bei der Beurteilung der histologischen Präparate und für die Photographien
- den Laborantinnen des Institutes für Veterinärpathologie für die Herstellung der histologischen Präparate
- den Mitarbeitern des Graphiklabors für die Photographien.

